

ヒラメのカルシトニン及びカルシトニン遺伝子関連ペプチドの生理的役割：海水から淡水移行時のエラにおけるレセプター mRNA の発現について

Physiological role of calcitonin and calcitonin gene-related peptide in flounder: Expression of each receptor mRNA in the gill during transfer from seawater to freshwater

魚類におけるカルシトニンの生理作用は不明な点が多い。そこで我々は、その生理作用を解明する為、ヒラメのエラからカルシトニンのレセプター cDNA をクローニングし、さらにその過程でカルシトニン遺伝子関連ペプチドのレセプター cDNA の構造も決定した（平成 11 年度年次報告参照）。本研究では、これらのホルモンの生理作用を調べる為、ヒラメを海水から淡水に移行させ、エラにおけるレセプター mRNA の発現を調べた。

ヒラメのオス 4 匹（体重 41.5 ± 1.5 g）を 100% 海水から 50%、25% 及び淡水へと移行させた。それぞれ 1 日飼育し、その後 MS-222 で麻酔し、エラを摘出した。これらのエラからアイソゲン（ニッポンジーン）により total RNA を抽出し、Suzuki et al. (Zool. Sci., 14:833-836, 1997)の方法にしたがって RT-PCR 行った。なお、プライマーはカルシトニン及びカルシトニン遺伝子関連ペプチドのレセプター cDNA の塩基配列に基づき、それぞれの mRNA を特異的に増幅するように設計した。詳細は Suzuki et al. (Gene, 244: 81-88, 2000)に示してある。また、用いた組織中の mRNA 量が同じであることを調べる為、ヒラメのハウスキーピング遺伝子である Elongation factor-1 α (EF1- α)の cDNA も同様に増幅した。PCR 終了後、2.5% アガロース (NuSive GTG、FMC) 電気泳動により、PCR 産物を解析した。

結果を Figure 1 に示す。カルシトニンレセプターの発現はそれぞれ 25 サイクルで検出されたが、希釈海水及び淡水に移行してもその発現量に変化がみられなかった。最近、我々はウナギを淡水から海水に移行させた時の血中のカルシトニン濃度を調べたが、そのレベルは変化しなかった (Suzuki et al., Gen. Comp. Endocrinol., 114: 387-395, 1999)。さらに、Björnsson et al. (Gen. Comp. Endocrinol., 74: 346-354, 1989) はギンザケにおいても、淡水から海水移行時にカルシトニンの血液中のレベルは変化しないと報告している。従って、

カルシトニン浸透圧調節には関与していないと思われる。

一方、カルシトニン遺伝子関連ペプチドのレセプターは希釈海水に移行すると、その発現量が減少し、淡水に移行すると今回の条件では検出できなかった。なお、EF1- α は全てのエラで同じ割合で発現していたので、カルシトニン遺伝子関連ペプチドのレセプターの発現のみが特異的に減少したと言える。さらに、ニジマスにおいて、レセプターのバインディングアッセイによる特異的結合及び血中のカルシトニン遺伝子関連ペプチドレベルが海水適応により増加することも報告されている (Lamharzi and Fouchereau-Peron, Gen. Comp. Endocrinol., 102: 274-280, 1996)。従って、浸透圧調節特に海水適応にこのホルモンが関与している可能性が高い。

今後は、*in situ* ハイブリダイゼーション等により細胞レベルでのカルシトニン遺伝子関連ペプチドのレセプターの発現を調べ、その作用を調べて行く予定である。

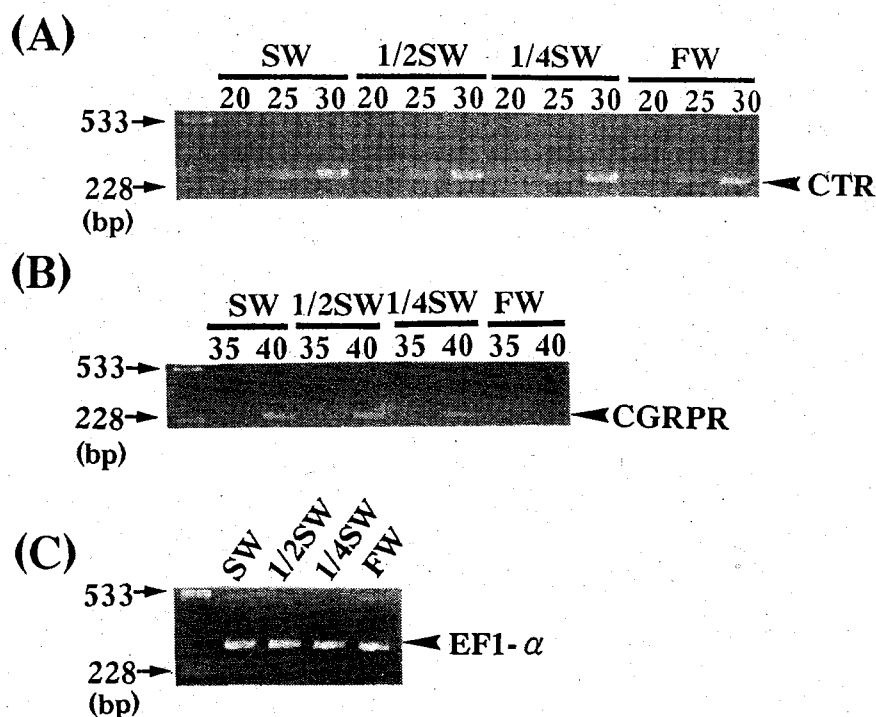


Figure 1. Expressions of CTR (A), CGRPR (B) and EF1- α (C) mRNAs in the gill during transfer from seawater to freshwater. Arrows show DNA size marker. Arrowheads indicate CTR cDNA (256 bp), CGRPR cDNA (241 bp), and EF1- α cDNA (308 bp).

(本研究は、当臨海実験所鈴木信雄助手と水産庁養殖研究所の鈴木徹博士及び黒川忠英博士との共同研究により行われた。)